

## **ЭСКУЛИНАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА G У ПАЦИЕНТОВ С ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ**

*Окулич В.К., Сенькович С.А., Булатова И.А.  
УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов  
медицинский университет»*

**Введение.** Начиная с 1985 года одной из наиболее активно исследуемых областей в иммунологии является изучение иммуноглобулинов, обладающих собственной каталитической активностью - абзимов.

К настоящему времени получены природные абзимы из сывороток крови пациентов с различной патологией и здоровых лиц [1, 2].

Обнаружено, что у лиц с различными аутоиммунными процессами, системными заболеваниями соединительной ткани, заболеваниями щитовидной железы, вирусными и бактериальными инфекциями антитела могут обладать различными видами каталитической активности (протеолитической, нуклеазной, гиалуронидазной, пероксидазной, амилазной и другими).

Важно отметить, что многие виды абзимной встречаются и у здоровых лиц.

Одним из вариантов образования иммуноглобулинов (Ig) с каталитической активностью является механизм идиотип-антиидиотипического взаимодействия. Учитывая, что при развитии инфекционного процесса происходит массовое воздействие ферментов микроорганизма на иммунную систему макроорганизма, нельзя исключить образование каталитических антител. Такие антитела могут оказывать собственное воздействие на течение патологического процесса, обусловленное ферментными свойствами.

Ряд возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний синтезируют фермент, вызывающий гидролиз эскулина (кумариновый гликозид) с образованием эскулетина и глюкозы [3]. При возникновении хирургической инфекции возможно образование Ig, обладающих эскулиназной активностью. В работе S.J. Pollack (1988) и некоторых других описан гидролиз кумариновых эфиров, катализируемый препаратами моноклональных Ig [4], тогда как исследований активности поликлональных иммуноглобулинов ранее не проводилось.

**Цель.** Изучить эскулиназную активность IgG, выделенных от больных с хирургической инфекцией и сравнить с лицами без инфекционного процесса.

**Материалы и методы.** Для выделения и очистки Ig был использован риванол-сульфатный метод с использованием аффинной хроматографии на

стафилококковом протеине А. Контроль чистоты полученных препаратов IgG осуществляли с помощью электрофореза в 10% и градиентном 4-20% полиакриламидном геле в присутствии додецил-сульфата натрия в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях. Гель окрашивали нитратом серебра. Для проверки стерильности полученного материала осуществляли выборочный посев проб иммуноглобулинов на кровяной агар и сахарный бульон.

Для определения эскулиновой активности IgG в реакционную смесь брали 0,1 мл Ig в концентрации 1 мг/мл и 0,1 мл 0,04% раствора эскулина гидрата в 0,066 М фосфатном буфере (pH 7,4) с добавлением цитрата железа до концентрации 0,066%. Для отрицательного контроля использовали 0,9% раствор хлорида натрия вместо препарата иммуноглобулина.

После 22 часов инкубации при температуре 37°C в плоскостных планшетах для иммуноферментного анализа производили измерение оптической плотности лунок на анализаторе иммуноферментном АИФ-М/340 при длине волны 450 нм. Результат учитывали в единицах оптической плотности по формуле  $A = E_{пр} - E_{к}$ , где  $A$  - эскулиновая активность,  $E_{пр}$  - оптическая плотность пробы Ig,  $E_{к}$  - средняя оптическая плотность контрольных лунок.

Описанная методика была разработана нами на основе метода, использующегося для определения эскулиновой активности микроорганизмов [5]. Метод основан на том, что высвобождающаяся при гидролизе эскулина глюкоза образует комплекс с цитратом железа, что приводит к изменению оптической плотности раствора.

Все обследованные пациенты были разделены на 4 группы: пациенты с хроническим остеомиелитами ( $n=6$ ), с острыми гнойно-воспалительными заболеваниями ( $n=19$ ), с инфекцией челюстно-лицевой области ( $n=9$ ) и группа пациентов без гнойно-воспалительных процессов ( $n=12$ ), которую составили лица прооперированные по поводу заболеваний не воспалительной природы, находящиеся в послеоперационном периоде протекающем без гнойных осложнений.

**Результаты и обсуждение.** Распределение полученных данных для эскулиновой активности IgG не во всех группах было нормальным, поэтому при сравнении достоверности отличий между группами был использован критерий Манна-Уитни.

Наиболее высокий уровень эскулиновой активности IgG был выявлен в группе пациентов с острыми гнойно-воспалительными процессами: медиана - 120 ЕОП, 25 - 75 процентили - 59 - 253 ЕОП.

Уровень активности в этой группе был достоверно выше, чем в других исследованных группах (см. табл 1): группа пациентов с хроническим остеомиелитом - 42,5 (32 - 62), больные с гнойно-воспалительными процессами - 35 (9 - 59), лица без гнойных процессов - 54,5 (46 - 61). Между остальными группами достоверных отличий не выявлено.

Таблица 1 – Эскулиназная активность IgG

Группа	n	Медиана ЕОП	Процентиль 25-75 ЕОП	Достовер- ность отличий
1. Хронический остеомиелит	6	42,5	32-62	P2.1=0,028 P2.3=0,011 p2_4=0,008
2. Острые гнойно- воспалительные заболевания	19	120	59-253	
3. Гнойно- воспалительные заболевания челюстно- лицевой области	9	35	9-59	
4. Пациенты без гнойных процессов	12	54,5	46-61	

#### Выводы.

1. Впервые у препаратов поликлональных Ig выявлено наличие эскулиназной активности

2. Полученные данные свидетельствуют о влиянии микробной инфекции на формирование абзимной активности

3. Уровень эскулиназной активности у пациентов с острыми гнойно-воспалительными процессами оказался существенно выше, чем в других группах, что при дальнейших исследованиях, возможно, позволит создать новый критерий для дифференцировки острых и хронических гнойных процессов

#### Литература:

1. ДНК и РНК-гидролизующие антитела из крови больных различными формами вирусного гепатита / А.Г. Барановский [и др.] // Биохимия. - 1997. - Т. 62. - № 12. - С. 1590-1599

2. Unexpected presence of polyreactive catalytic antibodies in IgG from unimmunized donors and decreased levels in rheumatoid arthritis / R. Kalaga [et al.] // J. Immunol. - 1995. - Vol. 155. - N 5. - P. 2695-2702.

3. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. / редкал. Дж. Хоулт [и др.]. - Москва: Мир, 1997. - 2 т.

4. Pollack, S.J. Introduction of nucleophiles and spectroscopic probes into antibody combining sites / S.J. Pollack, G.R. Nakayama, P. Schultz // Science. - 1988. - Vol. 242. - P. 1038-1040

5. Manual of clinical microbiology / A. Ballow [et. al.]; ed. A. Ballow. - Washington, 1991. - 1364 p.